

Over-expression of Runx1 transcription factor impairs the development of thymocytes from the double negative to double positive stages

著者	WONG WON FEN
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	生博第168号
URL	http://hdl.handle.net/10097/51191

ウオン ウアン フェン

氏名（本籍地） WONG, WON FEN
学 位 の 種 類 博士（生命科学）
学 位 記 番 号 生博第168号
学位授与年月日 平成22年3月25日
学位授与の要件 学位規程第4条第1項該当
研 究 科 , 専 攻 東北大学大学院生命科学研究科
(博士課程) 生命機能科学専攻

論 文 題 目 Over-expression of Runx1 transcription factor impairs
the development of thymocytes from the double negative
to double positive stages (Runx1 転写因子の過剰発現
は、ダブル・ネガティブからダブル・ポジティブへの胸腺細
胞分化を傷害する)

博士論文審査委員 (主査) 教 授 佐 竹 正 延
教 授 高 井 俊 行
准教授 中 村 晃

論文内容の要旨

Runx1 transcription factor is highly expressed at a CD4/CD8-double-negative (DN) stage of thymocytes development, but is down-regulated when cells proceed to the double positive (DP) stage. In the present study, we examined whether the down-regulation of Runx1 is necessary for thymocyte differentiation from the DN to DP stages. When Runx1 was artificially over-expressed in thymocytes by Lck-driven Cre, the DN3 population was unaffected as exemplified by proper pre-TCR expression, whereas the DN4 population was perturbed as shown by the decrease in the CD27^{hi} sub-fraction. In parallel, the growth-rate of DN4 cells was reduced by half, as measured by BrdU incorporation. These events impaired the transition of DN4 cells to the DP stage, resulting in the drastic reduction of the number of DP thymocytes. The *Runx1* gene has two promoters, a proximal and a distal promoter; and, in thymocytes, endogenous Runx1 was mainly transcribed from the distal promoter. Interestingly, only distal, but not proximal Runx1 over-expression exhibited an inhibitory effect on thymocyte differentiation, suggesting that the distal Runx1 protein may fulfill a unique function. Our collective results indicate that expression of the distal Runx1 protein must be adequately down-regulated for thymocytes to transit from the DN to DP stage, a critical step in the massive expansion of the T cell lineage.

論文審査結果の要旨

免疫反応を司る主役の1つである T リンパ球は、胸腺内において何段階かの分化選択を受けつつ、増殖して成熟し、末梢リンパ組織に分配される。ここで胸腺内 T リンパ球分化は、幾つかの主要転写因子による遺伝子発現調節を受けることによって達成されることが判明しているが、その1つに Runx1 転写因子がある。即ち、ターゲティング・アプローチにより本遺伝子を T リンパ球特異的に欠損させると、胸腺 T リンパ球の分化がダブル・ネガティブ (DN) の段階でブロックされることが報告されている。この知見は、DN 期に発現している Runx1 タンパクの意義を立証するものである。ところで本 Runx1 タンパクは、T リンパ球がダブル・ポジティブ (DP) 段階に分化すると、その発現が低下することが知られていた。Wong 氏の研究は、Runx1 の存在意義ではなく、DN から DP にかけての Runx1 ダウン・レギュレーションの意義を問うたものである。

Runx1 を T リンパ球特異的に過剰発現するトランスジェニック・マウスを作成し解析した所、preTCR の発現レベルに影響はなく DN 3 段階までの分化は正常に進行していた。しかるに Br dU 取り込みで測定した細胞増殖能が DN4 段階で半減しており、その結果、DP 細胞数は 10 分の 1 にまで減少していた。しかも、Runx1 遺伝子は遠位と近位の 2 つのプロモーターから転写されるが、遠位由来の Runx1 タンパクのみ、その過剰発現による効果が観察された。即ち、遠位 Runx1 タンパクは (近位 Runx1 タンパクには無い)、ユニークな活性を有するものと示唆された。ちなみに胸腺細胞に内在性に発現している Runx1 は遠位由来である。いずれにしても胸腺 T リンパ球が DN から DP 段階にかけて分化するためには、Runx1 がダウン・レギュレーションされる必然性があることになる。

以上の研究成果は、Wong 氏が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。したがって Wong 氏提出の論文は、博士 (生命科学) の博士論文として合格と認める。